

令和 3 年 6 月 16 日現在

機関番号：34310

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H04755

研究課題名(和文)低酸素トレーニングによる特異的適応を効率的に獲得するトレーニングプログラムの検証

研究課題名(英文)Validation of a training program for efficient acquisition of specific adaptations by hypoxic training

研究代表者

高倉 久志(Takakura, Hisashi)

同志社大学・スポーツ健康科学部・助教

研究者番号：20631914

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 19,300,000円

研究成果の概要(和文)：低酸素環境を利用して持続的競技能力の向上に効果的な運動トレーニング(TR)プログラムを考案するために、低酸素刺激とTRの組合せによる影響を検証した。本研究ではTRによる酸素利用能力への効果を維持したまま、低酸素環境特異的な適応を得られるTRプログラムを考案するために、低酸素環境とTRの様々な組み合わせが有酸素性代謝能力に及ぼす影響を検討した。低酸素暴露およびTRは単独の刺激因子として用いられた場合はそれぞれ有酸素性代謝能力に関与する異なる因子を向上させるものの、両因子を組み合わせた際にはそれらの効果が減弱、消失する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低酸素環境を用いた運動トレーニングの最適化条件を検討することによって、低酸素トレーニングによる身体的負担を軽減しながら(低酸素暴露時間の最短化や酸素濃度設定値の最適化)、低酸素トレーニング特異的な適応を効率的に獲得し、筋の有酸素性代謝能力を効果的に向上させる新たな低酸素トレーニングプログラムを提唱できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To devise a practical exercise training (TR) program for improving athletic endurance performance in a hypoxic environment, we examined the effects of a combination of hypoxic stimulation and TR. The effects of a protocol of brief hypoxic exposure after endurance exercise on the aerobic metabolic capacity were examined to devise a TR program that would provide a hypoxic environment-specific adaptation for oxygen utilization capacity while maintaining exercise TR. The findings suggest that hypoxic exposure and TR, when used as individual stimulants, improve different factors involved in aerobic metabolic capacity, while the combination of the two factors may attenuate or eliminate their effects.

研究分野：スポーツ生化学

キーワード：低酸素環境 持続的トレーニング ミトコンドリア 赤血球 ヘモグロビン ミオグロビン 筋組織
酸素供給機構

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

低酸素環境を用いたトレーニングは、常酸素環境でのトレーニングによる持続的競技力向上を助長するために採用されている場合が多い。しかしながら、その有用性については議論が続けられている (Hoppler et al., 2008)。その原因の1つに、骨格筋の有酸素性代謝能力に対する低酸素トレーニングの効果が明確にされていないことがある。骨格筋の有酸素性代謝能力は、細胞外からの酸素供給能力 (毛細血管密度、赤血球数、サイズなど)、筋細胞内酸素運搬能力 (ミオグロビン)、筋細胞内酸素利用能力 (ミトコンドリア) の3要因に大別できる (図1)。

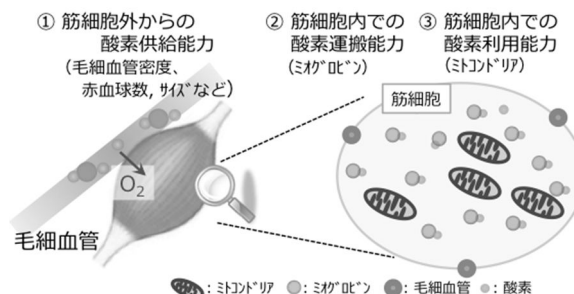


図1. 骨格筋有酸素代謝能力を規定する3要因

そのため、持続的運動能力向上のための効果的、効率的なトレーニング方法を考える際には、これらの3要因すべてがより顕著に応答、適応するトレーニングプログラムを構築する必要があります。上記の3要因に対するトレーニング効果を検証すると、「低酸素」によって付加的な応答や適応が得られるのは、細胞外からの酸素供給能力のみであり、筋細胞内酸素運搬能力については運動のみもしくは運動と低酸素の組み合わせによって増加し、筋細胞内酸素利用能力については低酸素曝露や低酸素トレーニングによってTR効果が促進されない (Vogt et al., 2001; Nunomiya et al., 2016)。低酸素曝露によって筋細胞内酸素環境が低酸素化すると、低酸素誘導因子である HIF-1 α が誘導される。この HIF-1 α は、通常酸素状態ではプロリン水酸化酵素 (PHD) によって水酸化された後に von Hippel Lindau (VHL) に認識され、分解される。その一方で、酸素濃度の低下に伴って PHD が不活性化され、HIF-1 α が核内に移行し、低酸素応答性の遺伝子発現を促す (図2; Belanger et al., 2007; Reboul et al., 2005)。その一方で、低酸素によって誘導された低酸素誘導因子が関連した影響として、酸素代謝能力を減衰させる (Belanger et al., 2007; Slot et al., 2014)。例えば、低酸素刺激はミトコンドリア酵素の減少や呼吸能の低下、ミトコンドリア量の減少などを引き起こし、ミトコンドリア機能を減少させる (Galbés et al., 2008; Howald and Hoppeler, 2003; Ripamonti et al., 2006)。このことは、持久力の減少や筋肉の疲労耐性の低下を導くと考えられる。しかしながら、ミトコンドリア生合成の鍵因子である PGC-1 α を過剰発現させると、低酸素刺激に由来する PPAR 転写活性の減少を防ぐことができる (Slot et al., 2014)。この研究は、PGC-1 α が発現増加した状態での低酸素刺激は、低酸素刺激に由来する筋酸素代謝能力の減衰を抑制できる可能性を示唆しているかもしれない。本研究では低酸素環境と運動トレーニングの様々な組み合わせが骨格筋有酸素性代謝能力に及ぼす一過性および慢性的な影響について検討した。

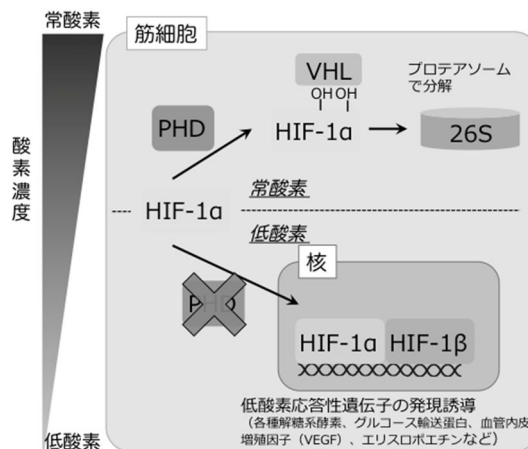


図2. HIF-1 α を介した低酸素応答の分子メカニズムについて

2. 研究の目的

本研究では低酸素環境と運動トレーニングの様々な組み合わせが骨格筋有酸素性代謝能力に及ぼす一過性および慢性的な影響について検討した。

3. 研究の方法

被験動物は Wistar 系雄性ラットとし、以下の実験を実施した。

(1) 曝露時間の異なる一過性低酸素曝露が骨格筋および腎臓における筋有酸素性代謝に関与する因子の mRNA 発現に及ぼす影響について

低酸素曝露に用いた酸素濃度は 12.0%O₂ とし、曝露時間は 0 h、3 h、6 h のいずれかとした。mRNA 発現量の測定には real time PCR 法を用い、腎臓でのエリスロポエチン (Epo) や筋組織での筋有酸素性代謝に関与する因子 (Pgc1 α 、Glut1、Cox5a、Mb、Hif1 α) を測定対象とした。

(2) 曝露時間の異なる慢性的低酸素曝露が赤血球 (RBC) およびヘモグロビン量 (Hb)、ミトコンドリア量に及ぼす影響について

9 週間の間欠的 (IHE) もしくは慢性的低酸素曝露 (CHE) が血液成分 (RBC や Hb)、ミトコンドリア量 (COXIV) に及ぼす影響について検証した。IHE 群は 1 日 3 時間の 12.0%O₂ 低酸素

暴露を、CHE 群は 1 日 24 時間の 12.0%O₂ 低酸素暴露とし、期間は 9 週間とした。RBC や Hb は血液学検査を用いて、COXIV 発現量はウェスタンブロッティング法によって測定した。

(3) 低酸素環境と運動トレーニングの様々な組み合わせが骨格筋有酸素性代謝能力に及ぼす一過性の影響について

常酸素環境下で一過性運動を実施する群 (EUN 群)、低酸素環境下 (15.4%O₂) で一過性運動を実施する群 (EUH 群)、常酸素環境下での一過性運動終了後に低酸素暴露 (12.0%O₂) を 3 時間行う群 (HAE 群) を設定し、各実験条件終了 1 時間後の mRNA 発現量を real time PCR 法によって測定した。運動様式はトレッドミルを用いた強制ランニングとし、運動時間は 40 分とし、斜度は 5° に固定した。EUH 群のプロトコルに関して、走行速度は通常酸素環境での設定走行速度の 90% とした。腎臓でのエリスロポエチン (Epo) や筋組織での筋有酸素性代謝に関与する因子 (Pgc1 α 、Glut1、Cox5a、Mb、Vegfa) を対象とした。

(4) 低酸素環境と運動トレーニング (TR) の様々な組み合わせが骨格筋有酸素性代謝能力に及ぼす慢性的な影響について

常酸素環境下で持久的トレーニングを実施する群 (TUN 群)、低酸素環境下 (15.4%O₂) で持久的トレーニングを実施する群 (TUH 群)、常酸素環境下での持久的運動終了後に低酸素暴露 (12.0%O₂) を 3 時間行う群 (HAT 群) を設定し、各トレーニング期間終了後に、血液成分 (RBC や Hb)、ミトコンドリア量 (COXIV) に及ぼす影響について検証した。運動トレーニング期間は 9 週間とした。運動様式にはトレッドミルを用いた強制ランニングを用い、運動時間は最大で 90 分、走行速度は最大で 30 m/min、斜度は 5° に固定した。RBC や Hb は血液学検査を用い、COXIV 発現量はウェスタンブロッティング法によって測定した。

4. 研究成果

(1) 暴露時間の異なる一過性低酸素暴露が骨格筋および腎臓における筋有酸素性代謝に関与する因子の mRNA 発現に及ぼす影響について検証した結果、Epo mRNA 発現量は少なくとも 3 時間の低酸素暴露によって増加することが示された (図 3)。また、Hif1 α の下流因子である Glut1 mRNA 発現量は 6 時間以上の低酸素暴露によって増加する可能性が示唆された。その他の因子については、少なくとも 6 時間までの低酸素暴露には有意な応答は認められなかった。

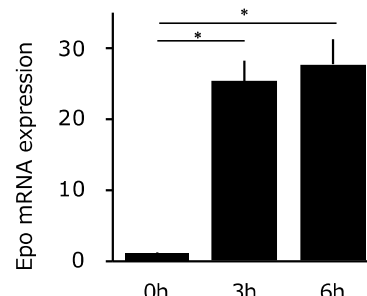


図3 異なる低酸素暴露時間が腎臓におけるEpo mRNA発現量に及ぼす影響について。*: p < 0.05.

(2) 暴露時間の異なる慢性的低酸素暴露が赤血球 (RBC) およびヘモグロビン量 (Hb)、ミトコンドリア量に及ぼす影響について検証した結果、RBC および Hb は全ての群間で有意な差が認められたことから、RBC および Hb は 1 日あたり短時間 (3 時間) の低酸素暴露によっても増加するものの、慢性的に低酸素環境に暴露されていた方がその効果がより高い可能性が示唆された (図 4)。その一方で、ミトコンドリア量の指標となる COXIV 発現量については、短時間の低酸素暴露では増加しないものの、慢性的に低酸素環境に暴露された場合には増加することが示された (図 4)。

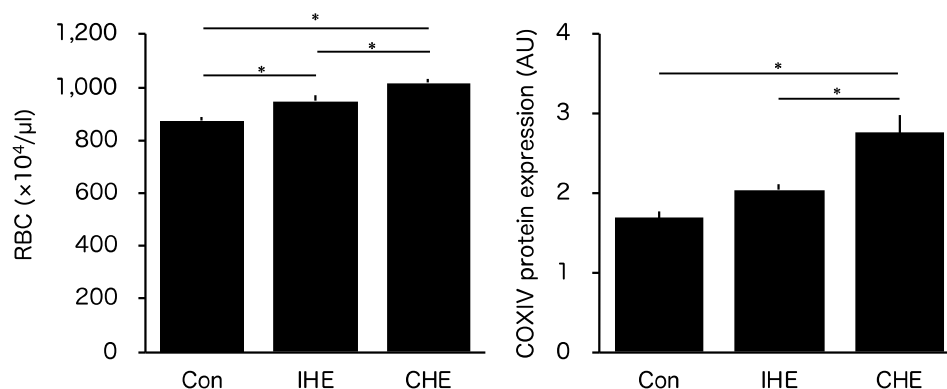


図4 暴露時間の異なる慢性的低酸素暴露がRBCおよびミトコンドリア量に及ぼす影響について。*: p < 0.05

(3) 低酸素環境と運動トレーニングの様々な組み合わせが骨格筋有酸素性代謝能力に及ぼす一過性の影響について検証したところ、Epo mRNA 発現量は HAE 群においてのみ増加が認められた。このことは、運動や運動中の低酸素暴露では Epo mRNA 発現量に対する影響が認められず、Epo mRNA 発現量を増加させるためには低酸素刺激を単独で実施する必要性を示唆しているかもしれない。また、Pgc1 α mRNA 発現量は EUN 群と EUH 群で発現が増加した一方で、HAE

群では有意な発現増加が認められなかった。運動を実施したにも関わらず発現増加が認められなかった原因としては、実験条件として一過性運動終了後から4時間が経過してしまっていることや運動による変化を低酸素刺激が抑制した可能性が考えられた。また、Glut1やVegfaの発現量はEUN群とHAE群で増加傾向が認められたものの、群間に有意差は認められなかった。Mb発現量は群間で有意差は認められなかった。

(4) 低酸素環境と運動トレーニング(TR)の様々な組み合わせが赤血球(RBC)およびヘモグロビン量(Hb)、ミトコンドリア量に及ぼす影響について検証したところ、RBCやHbについてはいずれの群間でも有意な差が認められなかった(図5)。また、ミトコンドリア量の指標となるCOXIV発現量については、TUN群と比較してHAT群が有意に低値を示した(図5)。

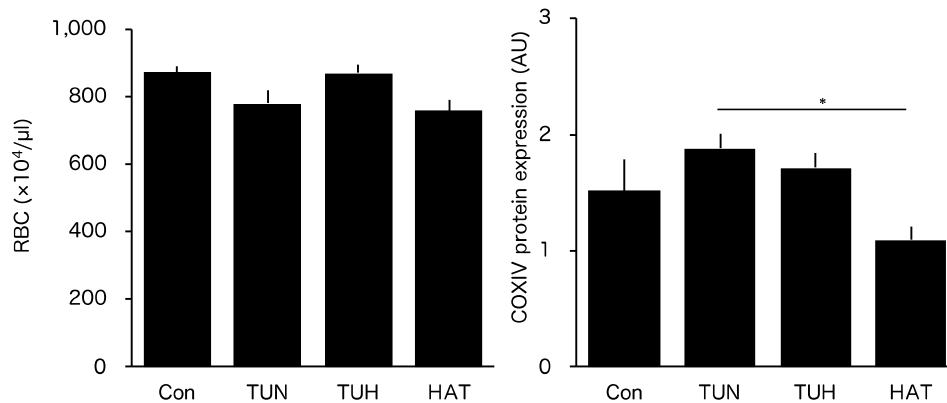


図5 低酸素環境を用いた持続的トレーニングがRBCおよびミトコンドリア量に及ぼす影響について。
*: p < 0.05

以上の結果をまとめると、低酸素暴露および持続的トレーニングは単独の刺激因子として用いられた場合はそれぞれ有酸素性代謝能力に關与する異なった因子を向上させるものの、低酸素環境とトレーニングを組み合わせた際にはそれらの効果が消失、相殺される可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kato Hisashi, Shibahara Takuya, Rahman Nazibur, Takakura Hisashi, Ohira Yoshinobu, Izawa Tetsuya	4. 巻 6
2. 論文標題 Effect of a 9-week exercise training regimen on expression of developmental genes related to growth-dependent fat expansion in juvenile rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e13880 ~ e13880
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.13880	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kato Hisashi, Masuda Shinya, Ohira Tomotaka, Ohira Luna, Takakura Hisashi, Ohira Yoshinobu, Izawa Tetsuya	4. 巻 6
2. 論文標題 Differential response of adipose tissue gene and protein expressions to 4 and 8 week administration of guanidinopropionic acid in mice	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e13616 ~ e13616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.13616	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Koma Rikuhide, Shibaguchi Tsubasa, Perez Lepez Claudia, Oka Toshihiko, Jue Thomas, Takakura Hisashi, Masuda Kazumi	4. 巻 9
2. 論文標題 Localization of myoglobin in mitochondria: implication in regulation of mitochondrial respiration in rat skeletal muscle	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 e14769
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14769	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Takakura Hisashi, Yamada Tatsuya, Masuda Kazumi	4. 巻 25
2. 論文標題 Involvement of Myoglobin in Intracellular Oxygen Transport and Oxidative Metabolism.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Adv Exer Sport Physiol	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 高倉久志, 渡邊大和, 須藤みず紀, 安藤創一, 加藤久詞, 大澤晴太, 井澤鉄也
2. 発表標題 一過性運動後の短時間低酸素曝露が骨格筋有酸素性代謝能力に及ぼす影響について.
3. 学会等名 第74回日本体力医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takakura H, Ueno D, Kato H, Hieda M and Izawa T
2. 発表標題 EFFECT OF TWICE-A-DAY ENDURANCE TRAINING ON SKELETAL MUSCLE OXIDATIVE CAPACITY BASED ON ACUTE RESPONSES OF PGC-1 .
3. 学会等名 European College of Sport Science 24st Annual Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hieda M, Takakura H, Kato H and Izawa T
2. 発表標題 EFFECT OF NUMBER OF EXERCISE TRAINING ON ENOS EXPRESSION.
3. 学会等名 European College of Sport Science 24st Annual Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takakura H, Watanabe Y, Kato H and Izawa T
2. 発表標題 Effects of short-term hypoxia exposure after acute exercise on the oxygen delivery and utilization capacity of skeletal muscle.
3. 学会等名 Exercise Metabolism (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤久詞, 高倉久志, 井澤鉄也
2. 発表標題 Homeoboxc10は褐色脂肪組織における運動トレーニング適応に関する
3. 学会等名 第26回日本運動生理学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 稗田睦子, 高倉久志, 加藤久詞, 井澤鉄也
2. 発表標題 トレーニングの回数はeNOS発現に影響するか?
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増田和実, 芝口翼, Perez-Lopez Claudia, 高倉久志
2. 発表標題 筋細胞のミトコンドリア内部におけるミオグロビンの相互作用
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井澤鉄也, 加藤久詞, 大澤晴太, 今井一貴, 高倉久志, 大平充宣
2. 発表標題 運動トレーニングならびに高脂肪食摂取が脂肪組織由来幹細胞 (ADSC) の代謝プロファイルに及ぼす影響
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤久詞, 今井一貴, 大澤晴太, 高倉久志, 大平充宣, 井澤鉄也
2. 発表標題 脂肪由来間葉系幹細胞の神経様細胞への分化能に及ぼす高脂肪食および運動トレーニングの影響.
3. 学会等名 第73回日本体力医学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山下こころ, 芝口翼, Claudia Perez Lopez, 高倉久志, 増田 和実
2. 発表標題 骨格筋ミトコンドリアに内在するMbと持久性トレーニングの影響について
3. 学会等名 平成30年度北陸体育学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高倉久志
2. 発表標題 運動時における筋細胞内の酸素運搬.
3. 学会等名 日本体育学会第68回大会(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高倉久志, 上野大心, 加藤久詞, 稗田睦子, 井澤鉄也
2. 発表標題 時計遺伝子の発現リズムに基づく1日2回トレーニングがミトコンドリア生合成に及ぼす影響.
3. 学会等名 第72回日本体力医学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 稗田睦子, 小峰秀彦, 高倉久志
2. 発表標題 肥満モデル動物における有酸素運動がAdropinに及ぼす影響.
3. 学会等名 第72回日本体力医学会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------